

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Zürich
Direktor: Prof. Dr. P. H. Rossier
und dem Pathologisch-Anatomischen Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. von Meyenburg
Arbeit unter Leitung von PD Dr. O. Spühler u. PD Prof. Dr. H. U. Zollinger

Über die Gefässveränderungen des Kaninchenohres hervorgerufen durch nephrotoxisches Entenserum (sog. Masugiversuch)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Renée Goldsand

von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. E. Uehlinger
sowie PD Dr. O. Spühler und PD Prof. Dr. H. U. Zollinger

Juris-Verlag Zürich

1954

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Zürich
Direktor: Prof. Dr. P. H. Rossier
und dem Pathologisch-Anatomischen Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. von Meyenburg
Arbeit unter Leitung von PD Dr. O. Spühler u. PD Prof. Dr. H. U. Zollinger

Über die Gefässveränderungen des Kaninchenohres hervorgerufen durch nephrotoxisches Entenserum (sog. Masugiversuch)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Renée Goldsand

von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. E. Uehlinger
sowie PD Dr. O. Spühler und PD Prof. Dr. H. U. Zollinger

Juris-Verlag Zürich

1954



Herrn Prof. Dr. med. H. U. Zollinger und Herrn P. D. Dr. med. O. Spühler möchte ich ganz besonders danken für die Ueberlassung des Themas sowie für die tatkräftige Unterstützung die sie meiner Arbeit angedeihen liessen.

Meinem lieben Vater



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einer alten klinischen Erfahrung entspricht, dass bei der akuten diffusen Glomerulonephritis (ADGN) generalisierte funktionelle und morphologische Gefässveränderungen gehäuft auftreten. Kussmaul und Maier (1866) wiesen als Erste auf das gehäufte Vorkommen von Periarteriitis nodosa zusammen mit ADGN hin. Andere Autoren wie Meyer (1878), Gruber (1925) und in neuerer Zeit Kipkie (1951) beschrieben weitere einschlägige Fälle. Auch Masugi (1935) zeigte an Hand von Tierexperimenten gewisse Zusammenhänge zwischen der ADGN und einer der Periarteriitis nodosa sehr ähnlichen Gefässerkrankung. Kylin und seine Mitarbeiter (1922) stellten mit Hilfe von Kapillardruckmessungen fest, dass den eigentlichen Nierenerscheinungen bei ADGN Veränderungen an den Kapillaren im Sinne einer massiven Druckerhöhung und Weiterstellung vorangehen. Kylin ging sogar soweit, diese sogenannte Kapillaritis in der Pathogenese der ADGN als primär aufzufassen. In neuester Zeit haben nun Spühler, Zollinger, Enderlin (1951) die Hypothese aufgestellt, dass es sich bei der ADGN um eine allgemeine Kapillarerkrankung handeln müsse.

Die Experimente von Masugi dienten uns als Ausgangspunkt, denn mit dieser Methodik gelingt es, im Tierexperiment eine ADGN hervorzurufen, welche sich in keiner Weise von der menschlichen unterscheidet.

Masugi sensibilisierte Enten mit entbluteten Kaninchennieren und injizierte das Entenserum den Kaninchen intravenös, wobei er die für die ADGN typischen Veränderungen an den Glomerula beobachtete. Den Mechanismus dieser Masugi-Nephritis können wir uns nach Spühler, Zollinger, Enderlin (1951) folgendermassen erklären: Infolge der intensiven Filtrationsarbeit der Glomerula gelangt das Masugi-Serum vor allen Dingen in den Glomerulum-Schlingen zur Fixation und Anreicherung. Es löst nach der Antigen-Zufuhr an Ort und Stelle eine der menschlichen ADGN identische allergisch-entzündliche Reaktion aus. Andere Endothelgebiete fixieren entsprechend ihrer enorm viel geringeren Filtration nur ganz kleine Mengen des Antikörpers, welche nicht ausreichen, um eine manifeste Antigen-Antikörper-Reaktion auszulösen. -

Zur Diskussion steht nun die Frage, ob man nicht durch geeignete Versuchsanordnung an den peripheren Gefässen die nämlichen pathologischen Veränderungen hervorrufen könnte, wie sie bei der experimentellen Masugi-Nephritis in den Glomerula beschrieben wurden. Durch Erzeugung einer Stase in einem Organ mit ausgedehntem Kapillarnetz wollten wir ein längeres Verweilen des nephrotoxischen Entenserums in den Gefässen und damit eine Infiltration der Gefässwände mit dem Serum erreichen.

Für unsere Versuche schien uns das Ohr des Kaninchens besonders geeignet, da man hier den Zu- und Abfluss des Blutes leicht regulieren kann. Eine Stase lässt sich hier über eine längere Zeit mit Leichtigkeit künstlich hervorrufen. Die Injektion kann unter Druck erfolgen, Nebenabflüsse sind nicht möglich, und es besteht eine einfache makroskopische wie auch mikroskopische Kontrollmöglichkeit der pathologischen Veränderungen.

Versuchsanordnung

Die Experimente wurden an 10 gesunden Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 2 kg ausgeführt. Zur Anwendung kam ein nach den Angaben von Spühler, Zollinger, Enderlin (1951) bereitetes nephrotoxisches Entenserum: Die Enten erhielten ungefähr 50 Injektionen von je 10 ccm eines zehnprozentigen Kaninchenlungenbreies zweimal wöchentlich intraperitoneal. Wir verwendeten Lungenentenserum, da wir damit die ausgeprägtesten pathologischen Veränderungen in den Nieren erreichten. Nach der Sensibilisierung nahmen wir einen Serumkontrollversuch vor: Ein Kaninchen erhielt intravenös 5 ccm Entenserum, worauf sich nach 10 Tagen eine mittelschwere ADGN entwickelte. Damit war die nephrotoxische Fähigkeit des Serums bewiesen.

Bei den eigentlichen Versuchen gingen wir nach folgendem Schema vor: Die Tiere wurden mit Aether narkotisiert. Als Vorbereitung legte sodann eine Hilfsperson eine gepolsterte Klemme an die Basis des Ohres, welche nach Einführen einer Injektionsnadel in eine laterale Ohrvene geschlossen wurde. Bei abgeklebtem arteriellem und venösem Blutstrom erhielten die Kaninchen 2 ccm Lungenentenserum intravenös. Die Injektion erfolgte unter Druck. Die Arterien und Venen traten dabei deutlich hervor. Wir liessen die Klemme 20 Minuten an Ort und Stelle. Die 10 Kaninchen teilten wir in drei Gruppen:

1. Ein Kaninchen erhielt normales Entenserum in ein Ohr,
2. Vier Tiere erhielten nephrotoxisches Entenserum in ein Ohr und
3. Fünf bekamen in ein Ohr normales Entenserum und in das andere nephrotoxisches Entenserum.

Bei den Tieren, welchen beide Sera injiziert wurden, nahmen wir die

Injektionen in Abständen von wenigen Minuten vor. Diese Massnahme hat den Vorteil, dass wir zur Beurteilung der Wirkung der beiden Sera mit derselben Reaktionslage des Tieres rechnen konnten. Die ersten Versuche, die wir nur an einem Ohr ausführten, hatten gezeigt, dass die beiden Ohren ganz unabhängig voneinander reagieren. *) - Bei einem Tier wurde das normale Entenserum mit Absicht paravenös injiziert, um die lokalen Veränderungen zu studieren. Sämtliche Tiere töteten wir am 10. Tag nach der Seruminjektion durch Luftembolie. Zur histologischen Untersuchung wurden die Nieren und beide Ohren entnommen.

Ergebnisse

Während der Zeit des Abklemmens sah man bei allen Tieren eine deutliche Abblassung des Ohres. Die Gefässe traten, wie schon oben erwähnt wurde, deutlich hervor. Bei einem Tier misslang die Stauung. Die Zirkulation kam stets sofort nach dem Lösen der Klemme wieder in Gang und zeigte die gleichen Verhältnisse wie vor dem Abklemmen. In fünf Fällen trat gegen Ende der Stauung eine deutliche Purpura auf, die sich aber im Laufe der Beobachtung wieder zurückbildete. Bei zwei Kaninchen führte eine Thrombose zur Nekrose des Ohres. Diese zwei, sowie dasjenige Tier, bei welchem die Stauung misslang, schieden für unsere weiteren Beobachtungen aus.

Makroskopisch zeigte sich bei sechs Kaninchen am ersten Tag ein deutliches Oedem im mit Masugi-Serum injizierten Ohr. Bei zwei Tieren trat ein gut sichtbares Oedem erst gegen den sechsten Tag auf. Weiterhin stellte sich am fünften Tag bei acht Kaninchen eine deutliche Hyperämie ein. Bei sechs Tieren gingen alle diese akut entzündlichen Erscheinungen langsam wieder zurück, und nach acht Tagen war nur noch eine - verglichen mit den normalen oder den mit normalem Entenserum injizierten Ohren - leicht verstärkte Gefässzeichnung zu sehen. Die erwähnte Ueberwärmung betrug zwischen einem und drei Graden Celsius (Hautthermometer nach Heidenwolf). Diejenigen Ohren, in welche normales Entenserum injiziert worden war, liessen nur geringgradigen makroskopische Veränderungen beobachten:

*) An dieser Stelle möchte ich Herrn Dr. M. Enderlin danken, mit dessen Unterstützung diese Experimente durchgeführt werden konnten.

Dreimal kam es zu flüchtigem Oedem, welches sich in zwei Fällen schon im Laufe des ersten Tages nach der Injektion zurückbildete, während es beim dritten Tier erst am dritten Tag wieder vollkommen verschwand. Unter diesen Tieren befand sich auch dasjenige Kaninchen, welchem absichtlich normales Entenserum paravenös injiziert wurde.

Die Nieren der mit unserem nephrotoxischen Serum behandelten Tiere zeigten makroskopisch alle die für die ADGN typischen Veränderungen, die sich auch mikroskopisch bestätigten. Die 2 ccm nephrotoxisches Entenserum haben somit genügt, um eine mittelschwere ADGN mit deutlicher Endothelproliferation und Membranschwellung der Glomerula sowie angedeuteter Kapseleithelproliferation im Sinne der von Zollinger (1951) beschriebenen Veränderungen hervorzurufen. Eine Ausnahme machte dasjenige Kaninchen, welches nur normales Entenserum erhalten hatte, denn seine Nieren zeigten keinerlei pathologische Veränderungen.

Mikroskopisch sieht man schon bei schwacher Vergrößerung bei den Tieren, welche nephrotoxisches Entenserum erhalten hatten, eine deutliche Verdickung der Ohren verglichen mit einem normalen Ohr oder nach Injektion von Normalentenserum (Abb. 1 und 2). Diese Verdickung beruht auf einer ödematösen Schwellung und einer massiven Zellinfiltration. Die Zellanhäufungen zeigen Knötchenform und sind als solche diffus im ganzen Ohr verteilt; es scheint keine Schicht bevorzugt zu sein. Die Veränderungen lassen sich auch auf allen Schnitten nachweisen.

Bei stärkerer Vergrößerung zeigt es sich, dass die Zellansammlungen besonders um kleine Gefässe, also um Arteriolen, Kapillaren und Venülen lokalisiert sind. Gehäuft treten sie auch in der Adventitia grösserer Gefässe und Nerven auf, ebenso in Knorpelnähe, wo ein gut ausgebildetes Kapillarnetz vorhanden ist. Die Adventitia der oben genannten Gefässe erscheint dermassen zellreich, dass man von einer "perivaskulären Manschette" sprechen kann. Bei diesen Zellanhäufungen dominieren Histiocyten. Dazu kommen einzelne Plasmazellen und Lymphocyten. Polynukleäre Leukocyten sind recht spärlich vorhanden (Abb. 3). Die faserigen Bindegewebelemente sind nur geringgradig vermehrt. Nekroseherde oder Einschmelzungen von Gewebe wurde nirgends beobachtet.

In den Spezialfärbungen, besonders in der Membranfärbung (Perjodat nach Hotchkiss), sind die pathologischen Veränderungen an den Kapillaren

selbst sehr deutlich. Es treten insbesondere Verdickungen und Aufsplitterungen der Basalmembranen auf. Die Endothelien sind geschwollen und zum Teil proliferiert, zum Teil haben sie zahlenmässig dermassen zugenommen, dass die Lumina der Kapillaren deutlich eingeengt und stellenweise sogar verschlossen sind (Abb. 4).

In denjenigen Fällen, bei welchen normales Entenserum injiziert wurde, kam es zu keiner Entzündung. Diese Ohren sind von normalen Kaninchenohren histologisch nicht zu unterscheiden. Selbst bei dem Tier mit paravenöser Injektion des normalen Entenserums konnten keinerlei pathologischen Veränderungen beobachtet werden.

Diskussion

In unseren Versuchen liess sich zeigen, dass die peripheren Kapillaren in ähnlicher Weise reagieren können wie die Glomerulumschlingen bei der experimentellen Masugi-Nephritis. Wir möchten hier noch einmal die wesentlichen Befunde festhalten: Makroskopisch kam es zu einer deutlichen Hyperämie an den Ohren, deren Beginn, verglichen mit derjenigen der Nieren, etwas verzögert auftrat (Ohren 5. Tag, Nieren 2. - 4. Tag).

Die Gefässläsion im Ohr bewirkte eine Permeabilitätsstörung der Gefässe mit anfänglich starker Oedembildung ("Albuminurie in die Gewebe" nach Eppinger), die sich auch histologisch in einer deutlichen Membranverdickung und Aufsplitterung erfassen liess. Diese Veränderungen können wir wenigstens teilweise der von Zollinger, Enderlin und Spühler (1952) beschriebenen Dysorose der Basalmembranen der Glomerula bei der Masugi-Nephritis gleichsetzen. Daneben kam es zu deutlichen Endothelproliferationen in den Kapillaren selbst, welche teilweise zum vollständigen Verschluss der kleinen Gefässe führte (Abb. 4). Diese Endothelwucherung und die Membranaufsplitterung lassen sich den entsprechenden entzündlichen Veränderungen an den Glomerula gleichsetzen. Andererseits kam es zu einer ausgesprochenen entzündlichen Reaktion der Adventitia, die sich mit der perifokalen Reaktion des Glomerulumkapsel-Epithels und des Niereninterstitiums vergleichen lässt. Wir nehmen an, dass die mononukleäre Reaktion die Antwort des Stromas auf die in den Kapillaren stattfindende Antigen-Antikörper-Reaktion darstellt. An den Ohren haben wir im Vergleich zu den Nieren ein viel reichlicheres Zwischengewebe, das imstande

ist, mit einer so ausgiebigen Zellvermehrung zu reagieren. Die Fixation des Entenantikörpers an den Ohrkapillaren lässt sich aus dem anfangs erwähnten Mechanismus der Masugi-Nephritis nach Spühler, Zollinger, Enderlin (1951) erklären: Durch die Stase im Ohr erzwang man eine Anreicherung des Antikörpers, die bei normaler Zirkulation nicht vorkommt. Das Ohr wurde durch die Stauung gewissermassen zu einer Filtrierleistung gezwungen. Somit wurde experimentell bewiesen, dass auch die Kapillaren der Peripherie imstande sind, auf das Masugi-Serum wie die Glomerula entzündlichen zu reagieren.

Die Fixation in der Haut nimmt nach den Angaben von Sarre und Wirtz (1942) viel längere Zeit in Anspruch als diejenige in den Nieren. Dies haben auch unsere Versuche deutlich gezeigt, da die 20 Minuten, die sonst zur Fixation des Masugi-Serums in den Nieren genügten, am Ohr nicht ausreichten, um alle Antikörper zu fixieren. Bei allen Tieren, deren Ohren mit nephrotoxischem Entenserum injiziert worden waren, kam es neben den besprochenen Ohrveränderungen doch noch zu einer mittelschweren akuten diffusen Glomerulonephritis. Die Fixation des Entenserums in den Ohrkapillaren musste innerhalb dieser 20 Minuten der Stase erfolgt sein. Dies beweisen die fünf Tiere, die beide Sera in Abständen von wenigen Minuten erhielten: Mit der Stauung wurden in beiden Ohren die gleichen Läsionen an den Kapillaren gesetzt. Nach dem Lösen der Klemme musste noch nephrotoxisches Serum im Kreislauf vorhanden sein, denn bei allen Tieren kam es zu einer mittelschweren ADGN. Die mit normalem Serum injizierten Ohren zeigten aber trotz des noch im Kreislauf zirkulierenden Antikörpers keinerlei pathologischen Veränderungen. Ebenso weist auch das frühe Auftreten von Oedemen darauf hin, dass die Fixation des Masugi-Entenserums und damit die Schädigung der Kapillaren unmittelbar nach der Injektion erfolgt sein musste. Ueber die Art der Fixation des Entenantikörpers in der Kapillarwandung wissen wir nichts Genaues. Sicher zu stehen scheint jedenfalls die quantitative Abhängigkeit der beschriebenen entzündlichen Veränderungen mit der momentanen Filtrationsleistung der betreffenden Kapillaren. Die Untersuchungen von Solomon und Mitarbeitern (1949) haben gezeigt, dass unter normalen Umständen nur die Glomerula imstande sind, das nephrotoxische Serum in beträchtlichen Mengen zu fixieren. Unsere Versuche lassen die fixierende Wirkung bei erzwungener Filtrationsleistung der Kapillaren des Kaninchenohres erkennen. Wir nehmen an, dass ganz geringe Mengen des nephrotoxischen Serums auch bei der normalen

Masugi-Versuchsanordnung generalisiert in den Kapillaren fixiert werden. Zu einer wesentlichen Antigen-Antikörper-Reaktion scheint notwendig zu sein, eine Bedingung, welche normalerweise nur in den Glomerula der Niere erfüllt wird.

Zusammenfassung

Durch künstlich erzeugte Stase und Injektion von Masugi-Serum in eine Ohrvene des Kaninchens erreichten wir eine künstliche Filtrationsleistung der Ohrkapillaren, welche eine der akut diffusen Glomerulonephritis analoge entzündliche Reaktion hervorrief. Bei den Kontrolltieren mit normalem Entenserum liess sich eine solche Entzündung nicht nachweisen.

Literaturverzeichnis

1. Fahr, Th.: In Handb. spez. Path. Henke-Lubarsch VI/1. Springer, Berlin 1925
2. Gruber: Virchow Arch. 258, 441, 1925
3. Hawn, C. V. u. Janeway, C. A.: J. exper. Med. 85, 571, 1947
4. Kipkie, G. F.: Arch. Path. (Am.) 51, 387, 1951
5. Kussmaul u. Maier: Dtsch. Arch. klin. Med. 1, 484, 1866
6. Kylin, E.: Zbl. inn. Med. 43, 41, 1922
7. Masugi, M.: Beitr. Path. Anat. 91, 82, 1933; 96, 391, 1935/36
Klin. Wschr. 14, 373, 1935
Virchow Arch. 293, 615, 1935
8. Sarre, H. und Wirtz, H.: 18, 1548, 1939
9. Solomon, D. H., Gardella, J., Fanger, H., Dethier, F. M.,
Ferrebec, J. W.: J. exp. Med. 90, 267, 1949
10. Spühler, O. Helvet. med. Acta 18, 301, 1951
11. Spühler, O., Zollinger, H. U., Enderlin, M.: Schweiz. med.
Wschr. 81, 904, 1951
12. Zollinger, H. U.: Helv. med. Acta 18, 269, 1951
13. Zollinger, H. U.: Enderlin, M., Spühler, O.: Bull. schweiz.
Akad. med. Wiss. 8, 162, 1952

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 4

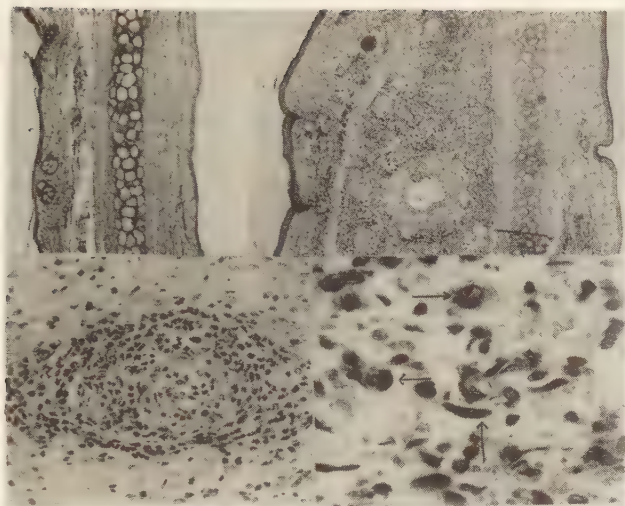


Abb. 1. Normales Kaninchenohr im Querschnitt.

Abb. 2. Kaninchen-Ohr 10 Tage nach lokaler intravenöser Injektion von nephrotoxisches Entenserum bei temporärer Gefäß-Abdrosselung. Deutliche Verdickung des Ohres bedingt durch Oedem und Zellinfiltration. Die Knötchenform der Struktur dieser Zellansammlungen um die Gefäße und Nerven ist deutlich zu erkennen. (Gleiche Vergrößerung wie Abb 1).

Abb. 3. Stärkere Vergrößerung eines solchen Zellinfiltrates. Ausgesprochene "perivaskuläre Manschette" bestehend aus Histiocyten, vereinzelt Plasmazellen und Lymphocyten. Die faserigen Bindegewebelemente sind nicht in dem Masse vermehrt wie die zelligen.

Abb. 4. Perjodatifärbung nach Hotchkiss.

Deutliche Verdickung, Aufsplitterung und Wucherung der Basalmembranen der Kapillaren, Schwellung und Vermehrung der Adventitia und der Endothelzellen (Pfeile), teilweise sind die Kapillaren durch die Endothelproliferation verschlossen.

Curriculum vitae

Am 28. März 1928 in Zürich geboren, besuchte ich die hiesige Volksschule. 1947 schloss ich das Gymnasium (Töcherschule Zürich) mit der Matur ab. Die nachfolgenden vorklinischen und klinischen Semester absolvierte ich an der Zürcher Universität mit Ausnahme des Wintersemesters 1951/52, welches ich in Paris verbrachte. Im Herbst 1953 beendigte ich mein Studium mit dem eidgenössischen Staatsexamen in Zürich. Seit Februar 1954 arbeite ich am Pathologischen Institut des Kantonsspitals St. Gallen.

